

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas

Luiz Paulino de Souza Júnior

**CARACTERIZAÇÃO DO PARÊNQUIMA TESTICULAR EM DUAS ESPÉCIES DE
*TROPIDURUS***

Belo Horizonte

2021

Luiz Paulino de Souza Júnior

**CARACTERIZAÇÃO DO PARÊNQUIMA TESTICULAR EM DUAS ESPÉCIES DE
*TROPIDURUS***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados, do Instituto de Ciências Biológicas, da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia de Vertebrados.

Orientadora: Dr^a Luciana Barreto Nascimento

Coorientadora: Dr^a Gleide Fernandes de Avelar

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

S729c	<p>Souza Júnior, Luiz Paulino de</p> <p>Caracterização do parênquima testicular em duas espécies de <i>Tropidurus</i> / Luiz Paulino de Souza Júnior. Belo Horizonte, 2021. 28 f. : il.</p> <p>Orientadora: Luciana Barreto Nascimento Coorientadora: Gleide Fernandes de Avelar Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados</p> <p>1. Lagarto - Reprodução 2. Testículos - Maturação. 3. Testículos - Histologia. 4. Espermatogênese em animais. 5. Habitat (Ecologia). 6. Ecologia animal. I. Nascimento, Luciana Barreto. II. Avelar, Gleide Fernandes de. III. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados. IV. Título.</p> <p>CDU: 598.112</p>
-------	--

Luiz Paulino de Souza Júnior

**CARACTERIZAÇÃO DO PARÊNQUIMA TESTICULAR EM DUAS ESPÉCIES DE
*TROPIDURUS***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados, do Instituto de Ciências Biológicas, da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia de Vertebrados.

Luciana Barreto Nascimento (orientadora) - PUC

Gleide Fernandes de Avelar (coorientadora) – UFMG

Mara Cíntia Kiefer (banca) – UFF

Guilherme Mattos Jardim Costa (banca) – UFMG

Flávia Cappuccio de Resende (suplente) – FUNED

Belo Horizonte, 26 de outubro de 2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço às Instituições que me ajudaram com o apoio financeiro para a pesquisa (CAPES, FAPEMIG, FIP e CNPQ);

Agradeço a Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais pela concessão da bolsa assistencial;

Agradeço a todos que de alguma forma colaboraram com a minha jornada e o desenvolvimento deste trabalho. Em especial, agradeço:

À minha mãe, Maria, pelo apoio e amor incondicional;

À minha família, por todo auxílio durante esse período turbulento;

Às professoras Doutoradas Luciana Barreto Nascimento e Gleide Fernandes de Avelar, pela orientação e coorientação, ensinamentos, confiança e apoio;

Ao professor Doutor Conrado Aleksander Barbosa Galdino, sua ajuda foi fundamental para o desenvolvimento dessa dissertação;

Aos professores do programa de Pós-graduação em Biologia de Vertebrados da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, pelos ensinamentos teóricos e práticos;

Aos amigos que fiz durante o Mestrado, em especial: Alyce Assis, Ana Paula, Daniel Teixeira, Izabela Mendes, Layane Martins, Lucas Belchior, Luísa Vidal, Marcella Goulart, Maurício Souza, Melissa Bravo, Pedro Macário, Raissa Scarpa, vocês foram e continuarão sendo essenciais no meu desenvolvimento pessoal e científico;

Aos amigos do laboratório HiNAR, Ana Frois, Artur Fagundes, Clarissa Souza, Daniel Melo, Gerson Muzzi, Lucas Pousa e Sophia Prado;

Aos amigos, Aline Coura, Beatriz Cristina, Lara Meyer e Nicolas Fontana, pelo incentivo e preocupações;

A técnica Mara Livia, do laboratório de Morfologia do ICB – UFMG, pelo carinho e apoio;

Aos meus amigos de longa data que sempre estiveram comigo, me apoiando e incentivando, em especial: Amanda Karina, Dani Silva, Jordane Andrade, Marina Carla, Raissa Guimarães e Rayana Helen;

Aos amigos que me ajudaram durante os trabalhos de campo, André Filogônio e Leonardo Carvalho;

Ao Guilherme, pelo companheirismo, carinho e incentivo;

Aos membros da banca pela disponibilidade e contribuições.

Gratidão!

“N3o s3o nossas habilidades que mostram quem realmente somos, s3o as nossas escolhas.”

Alvo Dumbledore

RESUMO

Apesar do grande número de espécies investigadas quanto à função testicular, ainda pouco se conhece acerca da biologia reprodutiva das espécies que compõem a ordem Squamata. A ampla distribuição e capacidade de adaptação aos diferentes biomas são características que tornam várias espécies deste grupo de vertebrados importantes modelos para se estudar a biologia reprodutiva de Squamata. Nesse contexto, espécies de lagartos da família Tropiduridae vem sendo avaliadas sob essa perspectiva. Assim, a fim de iniciar uma investigação detalhada acerca da função testicular desse importante gênero, no presente estudo caracterizamos o parênquima testicular de exemplares machos sexualmente maduros de *Tropidurus torquatus* (Wied-Neuwied, 1820) e *Tropidurus montanus* Rodrigues, 1987. A massa testicular média e massa corporal dos indivíduos foram obtidos e os testículos foram avaliados histomorfometricamente. O índice gonadossomático (IGS) de *T. Montanus* ($0,57 \pm 0,21$) reflete um maior investimento desta espécie na produção de gametas, uma vez que corresponde a cerca de duas vezes o valor obtido para *T. Torquatus* ($0,25 \pm 0,10$). Os resultados indicam alto percentual de compartimento tubular para ambas as espécies, acima dos índices observados para as espécies de vertebrados já investigadas. Dessa forma, a caracterização da histoarquitetura testicular em *T. montanus* e *T. torquatus* é fundamental para subsidiar estudos filogenéticos e comparativos entre espécies de Squamata neotropicais, além de auxiliar a elucidar comportamentos reprodutivos de espécies de répteis neotropicais.

Palavras-chave: espermatogênese, *Tropidurus*, Squamata, índice gonadossomático.

ABSTRACT

Despite the large number of species investigated regarding testicular function, little is known about the reproductive biology of the species that make up the order Squamata. The wide distribution and ability to adapt to different biomes are characteristics that make several species of this group of vertebrates important models to study the reproductive biology of Squamata. In this context, species of lizards from the Tropiduridae family have been evaluated from this perspective. Thus, in order to initiate a detailed investigation of the testicular function of this important genus, in the present study we characterized the testicular parenchyma of sexually mature males of *Tropidurus torquatus* (Wied Neuwied, 1820) and *Tropidurus montanus* Rodrigues, 1987. The average and body mass of the individuals were obtained and the testes were evaluated histomorphometrically. The gonadosomatic index (GSI) of *T. Montanus* (0.57 ± 0.21) reflects a greater investment of this species in the production of gametes, since it corresponds to about twice the value obtained for *T. Torquatus* (0.25 ± 0.10). The results indicate a high percentage of tubular compartment for both species, above the rates observed for the vertebrate species already investigated. Thus, the characterization of testicular histoarchitecture in *T. montanus* and *T. torquatus* is fundamental to support phylogenetic and comparative studies between Neotropical Squamata species, in addition to helping to elucidate reproductive behavior of Neotropical reptile species.

Key words: spermatogenesis, *Tropidurus*, Squamata, gonad somatic index

Sumário

1. Introdução.....	10
2. Objetivo geral	13
2.1 Objetivos específicos.....	13
3. Materiais e métodos	13
3.1 Área de estudo	13
3.2 Coleta de dados	14
3.3 Preparação do material para histologia	14
3.4 Análises histomorfométricas	15
3.5 Análises estatísticas.....	16
4. Resultados	16
4.1 Análise biométrica	16
4.2 Histologia testicular	17
4.3 Densidade volumétrica	17
4.4 Células de Leydig.....	18
4.5 Análise histomorfométrica	19
5. Discussão.....	19
6. Referências bibliográficas	23

1. Introdução

A principal função que garante o sucesso evolutivo e adaptativo de uma espécie é a reprodução, e os vertebrados apresentam uma enorme gama de estratégias e padrões reprodutivos, que podem ser moldados por características filogenéticas e/ou condições climáticas (Vitt e Colli, 1994). Na época reprodutiva, em resposta ao estímulo da hipófise pelo hipotálamo, as gônadas começam a produção dos gametas, espermatozoides e ovócitos, e dos hormônios esteroides sexuais (andrógenos e estrógenos) que estimulam, por sua vez, os órgãos sexuais acessórios (Van Dyke, 2015).

Os testículos são órgãos pares e revestidos por uma camada de tecido conjuntivo denso denominada túnica albugínea. Internamente, a túnica albugínea emite septos que dividem o parênquima testicular em lóbulos. Estes septos convergem para formar o mediastino, onde se localiza a *rete testis* (Russell et al., 1990). Dentro dos lóbulos são encontrados os túbulos seminíferos. Neles ocorre a espermatogênese, que corresponde à transformação de células germinativas diploides em células germinativas haploides, os espermatozoides (Russell et al., 1990; Bakst et al., 2007; Hess e França, 2008).

Os túbulos seminíferos são compostos pela túnica própria, formada pelas células mioioides peritubulares e membrana basal, sobre a qual estão apoiadas as células germinativas e as células de Sertoli (CS). As células germinativas darão origem aos espermatozoides. As CS correspondem às únicas células somáticas presentes no epitélio seminífero, sendo responsáveis pela secreção do fluido testicular, culminando com a formação do lúmen tubular. No espaço intersticial são encontradas as células de Leydig e tecido conjuntivo, contendo vasos sanguíneos e linfáticos (Hess e França, 2008).

Os animais da ordem Squamata, ou escamados, como são popularmente conhecidos, correspondem às serpentes, lagartos e aos anfisbenídeos (cobras de duas cabeças). Eles são encontrados nos mais diversos habitats, exceto em regiões geladas, por serem ectotérmicos, ou seja, dependerem de calor do ambiente para termorregulação (Pough, 2013). O Brasil é um país tropical que possui grande diversidade da fauna de escamados, para o qual atualmente é indicada a ocorrência de 753 espécies no país (Costa e Bérnils, 2018).

Dentre as estruturas relacionadas à biologia reprodutiva de Squamata neotropicais, algumas requerem mais atenção por serem pouco estudadas e, muitas vezes, serem eficientes para indicar o sucesso reprodutivo, evolutivo e adaptativo das espécies (Morais, 2015). Nesse con-

texto, estudos realizados com várias espécies de mamíferos demonstraram que, apesar dos compartimentos dos testículos serem organizados de forma similar, uma grande variação é observada em alguns parâmetros (Setchell e Breed, 2006). Dentre eles, destacam-se a porcentagem ocupada pelos túbulos seminíferos e pelas células de Leydig no parênquima testicular, o diâmetro dos túbulos, bem como o número das células de Leydig (Lara et al., 2018). Apesar do grande número de espécies investigadas quanto à função testicular, ainda pouco se conhece acerca da biologia reprodutiva das espécies que compõem a ordem Squamata.

O gênero *Tropidurus* Wied-Neuwied, 1825 corresponde a lagartos heliófilos e, predominantemente insetívoros (Vitt, 1993). Habitam biomas como a Caatinga, Cerrado, Chaco, enclaves savânicos na Amazônia e extensa área da costa Atlântica (Rodrigues, 1988; Carvalho, 2013). Todos os indivíduos machos sexualmente maduros das espécies do gênero *Tropidurus*, apresentam manchas melânicas na região da aba pré-cloacal e face ventral das coxas, indicando a aptidão para reprodução (Rodrigues, 1987; Pinto et al., 2005; Bruinjé et al., 2019a; Bruinjé, et al., 2019b). Por apresentarem ampla distribuição geográfica, onde até quatro espécies podem ocorrer em simpatria ou sintopia, espécies de *Tropidurus* podem ser consideradas de grande relevância para investigar a biologia reprodutiva de lagartos neotropicais (Van Sluys et al., 2002).

Tropidurus torquatus (Wied-Neuwied, 1820) é uma espécie de lagarto pertencente à família Tropiduridae, que possui ampla distribuição na América do Sul, ocorrendo desde a região centro-norte do Brasil até o norte da Argentina, com maior concentração nas áreas de Cerrado (Rodrigues, 1987). Os indivíduos são extremamente abundantes e os machos podem ser considerados mais conspícuos do que as fêmeas em paisagens abertas (Rodrigues, 1987; Pinto et al., 2005; Kohlsdorff et al., 2006; Carvalho, 2013). Podem ser vistos em afloramentos e costões rochosos e no solo arenoso das restingas, utilizando galhos e troncos como poleiros, bem como em áreas perturbadas e periurbanas onde ocupam cercas, muros e o solo, em paredes e cercas de casas e também pelo chão (Rodrigues, 1987; Wiederhecker et al., 2002). Em populações do Cerrado, os machos possuem um tamanho médio de 104 mm e as fêmeas de 86 mm, sendo que os primeiros atingem maturidade sexual com 70 mm (Rodrigues, 1987; Wiederhecker et al., 2002).

Tropidurus montanus Rodrigues, 1987 é um lagarto neotropical, endêmico da Cadeia do Espinhaço, sudeste do Brasil (Carvalho, 2013). Assim como *T. torquatus*, os machos dessa espécie são considerados mais conspícuos do que as fêmeas (Stuart-Fox et al., 2003) e altamente territorialistas (Galdino et al., 2017). Habitam áreas de campo rupestre, ocorrendo em altitudes acima de 1000m e podem ser encontrados sobre o substrato rochoso durante o dia (Rodrigues,

1988; Van Sluys et al., 2002). Os machos alcançam tamanho médio de 30,5 a 82,5mm e as fêmeas de 39,0 a 82,6mm (Vans Sluys et al., 2002).

Os túbulos seminíferos e o espaço intersticial dos testículos de *T. torquatus* e *T. montanus* geralmente possuem organização semelhante à dos demais Amniotas investigados, porém, cada espécie pode exibir características morfofuncionais particulares, como aquelas relacionadas a estratégias reprodutivas e de comportamento (Kerr et al., 2006; Setchell e Breed, 2006), porém, cada espécie pode exibir características morfofuncionais particulares como aquelas relacionadas às estratégias reprodutivas e de comportamento (Kerr et al., 2006; Setchell e Breed, 2006).

Entre as diversas funções ecológicas desempenhadas pelos representantes do grupo, dada a ampla distribuição e adaptação aos diferentes biomas, algumas espécies têm sido consideradas importantes bioindicadoras da ação antrópica no ambiente, como observado para *T. torquatus* (Salvador et al., 2018; De Almeida et al., 2021). Nesse sentido, a função reprodutiva é uma das atividades biológicas mais impactadas por interferências humanas, particularmente por aquelas ações que levam ao acúmulo de disruptores endócrinos no ambiente. Estes compostos podem provocar desde uma redução na eficiência reprodutiva, com diminuição no número de gametas produzidos ou na taxa de viabilidade dos ovos, até desequilíbrio na razão sexual, isto é, proporção entre machos e fêmeas, e aumento na ocorrência de animais com fenótipo intersexo (Martínez-Juárez e Moreno-Mendoza, 2019; Geffroy e Wedekind, 2020).

Em estudos de reprodução de *Tropidurus torquatus* e *Tropidurus montanus* em áreas de Cerrado, foram encontrados machos maduros em todos os meses do ano, com maior ocorrência de agosto à janeiro para *T. Torquatus* (Wiederhecker et al., 2002) e de setembro a janeiro para *T. montanus* (Van Sluys et al., 2002). Em outro realizado em uma área de restinga em Barra de Maricá - RJ, machos maduros de *T. torquatus* foram encontrados durante todo o ano (Martelotte et al., 2010; Ferreira et al, 2011). Esses resultados indicam, portanto, que os padrões reprodutivos de uma mesma espécie podem ser alterados sob a influência de diferentes condições ambientais.

Dessa forma, a caracterização dos parâmetros testiculares para essas duas espécies de Squamata neotropicais pode ser importante para embasar estudos filogenéticos e comparativos entre espécies do mesmo gênero. Além disso, auxiliar no conhecimento sobre os comportamentos reprodutivos de espécies de lagartos neotropicais, colaborando para a compreensão da história natural deste importante grupo de vertebrados.

2. Objetivo geral

Caracterizar o parênquima testicular de duas espécies de lagartos, *T. torquatus* e *T. montanus*.

2.1 Objetivos específicos

- Determinar a massa testicular média, massa corporal e CRC dos machos dessas espécies;
- Determinar a massa corporal alocada nos testículos das espécies supracitadas;
- Determinar o diâmetro tubular e a altura do epitélio de machos reprodutivos dessas espécies;
- Verificar o percentual ocupado pelos diferentes componentes do parênquima testicular das espécies supracitadas.

3. Materiais e métodos

3.1 Área de estudo

Foram coletados indivíduos machos sexualmente maduros (identificados através de manchas enegrecidas na aba cloacal e superfície ventral da coxa – figura 1) de *Tropidurus torquatus* (n = 5) e *Tropidurus montanus* (n = 7), da família Tropiduridae, no estado de Minas Gerais, sudeste do Brasil, de março a maio de 2021. Os indivíduos de *T. torquatus* foram coletados em áreas antropizadas no município de Betim (858 m acima do nível do mar), região metropolitana de Belo Horizonte. O clima da cidade é o Tropical de Altitude, enquanto o bioma é transição entre Cerrado e Mata Atlântica. A cidade é o quinto município mais populoso de MG, reunindo 450.024 habitantes segundo estimativa de 2021 do IBGE. Exemplares de *T. montanus* foram coletados em área de campo rupestre, inseridas no bioma Cerrado, na Serra do Cipó (1100 m acima do nível do mar), município de Santana do Riacho. O clima do local é o Sazonal, com períodos chuvosos ocorrendo entre outubro e abril. A permissão para coleta foi através da Licença nº 71792-1 do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio.



Figura
1:

Característica fenotípica indicativa de maturidade sexual em indivíduos machos de *T. torquatus* (A) e *T. montanus* (B), que corresponde a presença de manchas enegrecidas na aba cloacal e superfície ventral da coxa.

3.2 Coleta de dados

Os lagartos foram capturados com o auxílio de um laço. Após a coleta, os animais foram levados ao laboratório de Biologia Celular da UFMG, onde foram mortos com mepivacaína, conforme recomendado pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV), através da Resolução nº 1000 de 2012 e da Resolução Normativa nº 29 do CONCEA de 2015. Em seguida, o comprimento rostro-cloacal foi obtido com auxílio de paquímetro digital (precisão de 150 mm) e a massa dos indivíduos foi obtida com auxílio de dinamômetro manual (precisão de 300 g).

3.3 Preparação do material para histologia

Após a aferição do CRC e massa, os animais foram dissecados a partir de seção da linha mediana ventral na parede abdominal, para retirada dos testículos e epidídimos, posteriormente pesados em balança de precisão. Os testículos retirados foram fixados por imersão em glutaraldeído 5% tampão fosfato. Após 24 horas, os fragmentos fixados em glutaraldeído foram armazenados em tampão fosfato 0,05M (pH 7,3). As amostras foram desidratadas em uma sequência crescente de álcoois. Os tecidos fixados em glutaraldeído foram incluídos em glicol metacrilato para avaliações histomorfométricas. Seções de 4 µm de espessura foram obtidas das amostras incluídas em glicol metacrilato utilizando um micrótomo Leica RM 2165. Em seguida, as seções foram coradas com azul de toluidina e, posteriormente, escaneadas pelo Microscópio Digital – Scanner de lâminas 3D Histech®, em aumentos de 50x, 100x, 200x e

400x, em parceria com o CAPI (Centro de Aquisição e Processamento de Imagens ICB – UFMG). Após retirada dos testículos, os animais foram fixados em formol 10% e conservados em álcool. Os animais coletados para o presente estudo foram depositados na coleção de herpetologia do Museu de Ciências Naturais da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais.

3.4 Análises histomorfométricas

Após o escaneamento, mensuramos o diâmetro tubular e a altura do epitélio em 30 túbulos seminíferos escolhidos aleatoriamente para cada animal, utilizando o software SlideViewer. As medidas do diâmetro tubular foram utilizadas para calcular os parâmetros de área tubular (AT), área luminal (AL) e área epitelial (AE). Foram utilizadas, respectivamente, as seguintes fórmulas: $AT = \pi.RT^2$, sendo RT = raio tubular; $AL = \pi.RL^2$, sendo RL = raio luminal; $AE = AT - AL$. Por serem grandezas não lineares, a mensuração das áreas dos componentes tubulares testiculares torna a comparação mais confiável. A relação túbulo/epitélio (T/E), constante que permite comparar o correspondente de epitélio seminífero entre espécies, foi calculada dividindo AT/AE (Dias et al., 2019). Quanto mais próxima de 1 for esta relação, maior a quantidade de epitélio

O diâmetro nuclear médio das células de Leydig foi obtido a partir da mensuração de 30 núcleos, de perfil o mais arredondado possível, em seção transversal. Posteriormente, foi calculado o volume nuclear das células de Leydig, de acordo com a fórmula a seguir:

$$VN = \frac{4}{3} \pi R^3$$

Onde,

VN = volume nuclear (μm^3)

$\pi = 3,1415$

R = diâmetro nuclear/2

Para análise da proporção volumétrica dos componentes do parênquima testicular, 15 campos, escolhidos aleatoriamente para cada animal, foram fotografados com o auxílio do software SlideViewer em um aumento de 400x. Utilizando o software ImageJ, foi criada uma gráticula de 452 interseções, totalizando 6.780 pontos, onde foram contados aqueles que incidiram sobre os seguintes parâmetros: túnica própria, epitélio seminífero, células de Sertoli

e lúmen (compartimento tubular); células de Leydig, vasos linfáticos e sanguíneos e células do tecido conjuntivo (compartimento intertubular), além dos artefatos.

3.5 Análises estatísticas

Para cada exemplar foi estimado o índice gonadossomático (IGS – massa total dos testículos / massa corporal x 100). O IGS representa o percentual de massa corporal alocado nos testículos (Bittencourt, 2003; Pereira, 2004), e é considerado um bom indicador do ciclo reprodutivo de peixes, podendo ser utilizado para outros grupos de vertebrados. Portanto, o índice gonadossomático foi calculado para cada exemplar. A massa média dos testículos foi determinada através da média da massa dos dois testículos de cada lagarto.

Os dados quantitativos foram tabulados no programa Excel para Windows. Os dados de massa dos indivíduos e dos testículos foram expressos em média \pm desvio padrão ($M \pm DP$), sendo a unidade em g. Os dados de proporção volumétrica e parâmetros dos túbulos seminíferos foram expressos em média \pm erro padrão ($M \pm EP$), sendo a unidade em μm . Os gráficos foram criados no programa GraphPad Prism 6.0 para Windows, versão 6.01.

4. Resultados

4.1 Análise biométrica

A massa corporal ($56 + 25,7\text{g}$) e a massa testicular ($0,08 + 0,05$) foram maiores em *Tropidurus torquatus*. O IGS, porém, foi superior em *T. montanus* ($0,57 + 0,21$).

Tabela 1 – Parâmetros biométricos de machos sexualmente maduros de *Tropidurus torquatus* ($n = 5$) e *Tropidurus montanus* ($n = 7$), MG. CRC = comprimento rostro-cloacal; IGS = Índice gonadossomático. Massa testicular média expressa em média + erro-padrão e os demais expressos em média + desvio-padrão. Amplitude entre parênteses.

Parâmetros	<i>Tropidurus torquatus</i> (n = 5)	<i>Tropidurus montanus</i> (n = 7)
Massa corporal (g)	$56 \pm 25,7$	$17,14 \pm 4,56$
Massa testicular (g)	$0,08 \pm 0,05$	$0,05 \pm 0,003$

IGS (%)

0,25 ± 0,10

0,57 ± 0,21

4.2 Histologia testicular

A espermatogênese completa esteve presente nos túbulos seminíferos dos indivíduos das duas espécies investigadas. Figura 2A: *T. torquatus*, B: *T. montanus*. Foi possível identificar células germinativas em diferentes fases de maturação, seguindo a organização típica de estádios. Observa-se também, em seções transversais de alguns túbulos, a ocorrência de mais de uma associação celular distinta, indicando o padrão multiestádio para a espermatogênese nas duas espécies. No compartimento intertubular foram identificadas células de Leydig, com citoplasma repleto de gotas lipídicas.

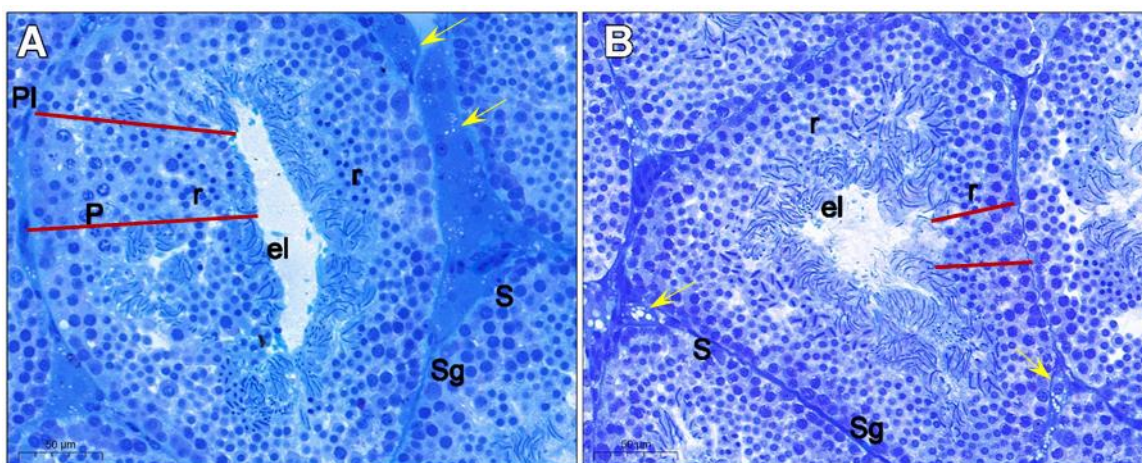


Figura 2: Parênquima testicular de *T. torquatus* (A) e *T. montanus* (B) corado em azul de Toluidina. Compartimento tubular com células germinativas em diferentes fases de diferenciação e células de Sertoli. Em uma mesma seção transversal de túbulo seminífero de ambas espécies, observa-se pelo menos duas associações celulares distintas, caracterizando a organização multiestádio da espermatogênese (linhas vermelhas contínuas). Células de Leydig com citoplasma apresentando gotas lipídicas (setas amarelas) estavam presentes no compartimento intertubular nas duas espécies investigadas. Sg: espermatogônia; PI: pré-leptóteno; P: paquíteno; r: espermátide arredondada; el: espermátide alongada; S: célula de Sertoli. Barras = 50 µm.

4.3 Densidade volumétrica

A distribuição dos componentes do parênquima testicular seguiu o mesmo padrão em ambas as espécies investigadas (tabela 2). O total de túbulos seminíferos correspondeu a $96,99 \pm 0,83\%$ e $98,81 \pm 0,36\%$, respectivamente, para *T. torquatus* e *T. montanus*, em detrimento ao percentual do compartimento intertubular, equivalente a $3,01 \pm 0,83$ em *T. torquatus* e $1,19 \pm 0,14$ em *T. montanus*.

Tabela 2 – Parâmetros de densidade volumétrica ($M \pm EP$; em %) dos componentes do parênquima testicular de *Tropidurus torquatus* e *Tropidurus montanus*.

Parâmetro	<i>Tropidurus torquatus</i>	<i>Tropidurus montanus</i>
Compartimento tubular	$96,99 \pm 0,83$	$98,81 \pm 0,14$
Túnica própria	$2,67 \pm 0,52$	$2,83 \pm 0,37$
Epitélio germinativo	$85,19 \pm 2,25$	$89,78 \pm 1,76$
Células de Sertoli	$0,63 \pm 0,12$	$0,62 \pm 0,06$
Lúmen	$8,50 \pm 2,26$	$5,57 \pm 1,37$
Compartimento intertubular	$3,01 \pm 0,83$	$1,19 \pm 0,14$
Células de Leydig	$0,75 \pm 0,22$	$0,29 \pm 0,05$
Vasos Linfáticos	$0,27 \pm 0,14$	$0,04 \pm 0,04$
Vasos Sanguíneos	$1,18 \pm 0,41$	$0,47 \pm 0,07$
Células do conjuntivo	$0,82 \pm 0,29$	$0,38 \pm 0,04$

4.4 Células de Leydig

Os valores encontrados para o diâmetro, e para o volume nuclear das células de Leydig em *T. torquatus* foram maiores do que aqueles obtidos para *T. montanus* (figura 3). Os diâmetros nucleares médios obtidos para *T. torquatus* e *T. montanus* foram, respectivamente, $6,95 \pm 0,2 \mu\text{m}$ e $6,34 \pm 0,11 \mu\text{m}$. O volume nuclear médio das células de Leydig em *T. torquatus* foi cerca de 30% maior que o observado para *T. montanus*, correspondendo a $185,1 \pm 16,7 \mu\text{m}^3$ e $142,4 \pm 7,7 \mu\text{m}^3$, respectivamente.

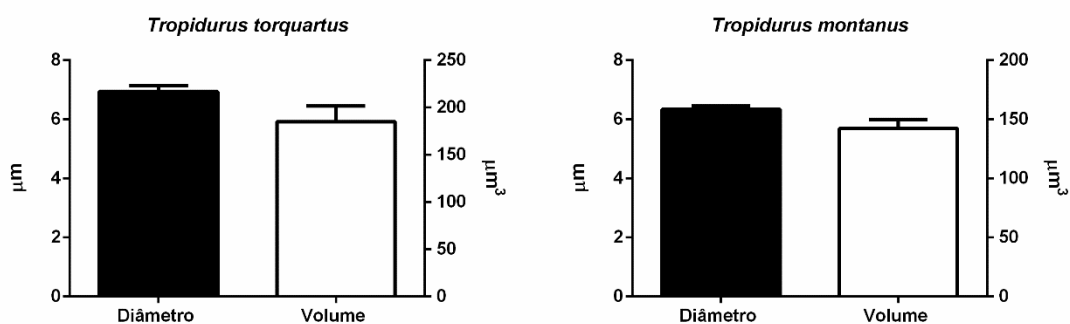


Figura 3 – Diâmetro e volume nuclear das células de Leydig em *T. torquatus* (n = 5) e *T. montanus* (n = 7).

4.5 Análise histomorfométrica

Os parâmetros dos túbulos seminíferos avaliados apresentaram grande variação entre *T. torquatus* e *T. montanus*, especialmente para a área luminal (tabela 3). O valor obtido para *T. torquatus* foi cerca de 96% maior do que o observado para *T. montanus*. Nesse sentido, a razão T/E demonstrou que, apesar de muito próximos, o valor obtido para *T. montanus* ($1,11 \pm 0,02$) indica que esta espécie apresentou maior área de epitélio seminífero, frente ao valor encontrado para *T. torquatus* ($1,17 \pm 0,03$).

Tabela 3 – Parâmetros morfométricos dos túbulos seminíferos de *Tropidurus torquatus* e *Tropidurus montanus* (M ± EPM) em µm.

Parâmetro	<i>Tropidurus torquatus</i>	<i>Tropidurus montanus</i>
Diâmetro tubular (µm)	259,53 ± 99,95	240,51 ± 18,38
Altura do epitélio (µm)	79,96 ± 27,88	81,84 ± 8,46
Área tubular (µm ²)	59176,11 ± 18648,69	45747,46 ± 3116,30
Área luminal (µm ²)	9379,74 ± 3867,95	4780,91 ± 1203,11
Área do epitélio (µm ²)	49796,37 ± 14986,92	40966,55 ± 2365
Razão T/E ¹	1,17 ± 0,03	1,11 ± 0,02

¹Representa a relação entre a área tubular e área de epitélio.

5. Discussão

O peso do testículo está diretamente relacionado com a produção espermática (França e Russell, 1998) e a reserva espermática (Bath e Chaudhari, 2002). Nesse contexto, o cálculo do IGS nos permite inferir qual das espécies do estudo destina mais massa corporal para os testículos, sendo um indicativo de maior investimento reprodutivo. Dentre os componentes do testículo, o parênquima testicular corresponde à porção do testículo responsável pela gametogênese e androgênese. O compartimento tubular representa a porção do parênquima testicular onde ocorre a produção dos espermatozoides, já o espaço intersticial, corresponde ao compartimento androgênico, responsável pela síntese e secreção da testosterona a partir das células de Leydig, bem como outros fatores, fundamentais na modulação da espermatogênese.

O percentual de IGS de *T. torquatus* foi de cerca de 0,25%. O compartimento tubular representou cerca de 97% do parênquima testicular, já o espaço intersticial, representou cerca de 3% do parênquima testicular para essa espécie. Em *T. montanus*, o valor de IGS foi de aproximadamente 0,57%, enquanto o compartimento tubular representou cerca de 99% do parênquima testicular. O espaço intersticial representou cerca de 1,2% do parênquima testicular.

O presente estudo inicia uma investigação detalhada da função testicular de duas espécies de lagartos da família Tropiduridae, *Tropidurus torquatus* e *Tropidurus montanus*. Nesse contexto, verificamos que apesar de apresentar massa corporal cerca de três vezes maior, o IGS de *T. torquatus* é aproximadamente 50% menor quando comparado ao obtido para *T. montanus*. Assim, considerando os valores de IGS encontrados para *T. torquatus* e *T. montanus*, podemos indicar que as espécies estudadas apresentam grande investimento na produção de espermatozoides. Entretanto, os valores de IGS em ambas as espécies variaram de acordo com o observado para *Kinosternon scorpioides* (0,59%; Sousa et al., 2014) e *Crotalus durissus* (0,31%; Resende e Avelar, 2021).

Apesar de próximos os valores encontrados para o parênquima testicular das duas espécies do estudo, a relação obtida entre área tubular e área de epitélio, foi mais próxima de 1 para *T. montanus*, corroborando os demais dados biométricos e morfométricos (IGS mais alto associado ao maior percentual de células germinativas e menor percentual de espaço intersticial). Isso indica que esta espécie se dedica mais à produção de gametas quando comparada a *T. torquatus*.

Devido à escassez de estudos que descrevem o parênquima testicular em répteis, buscamos em outros grupos de vertebrados amniotas a composição de tal componente testicular. Na maioria das espécies investigadas quanto ao compartimento tubular, demonstrou-se que 70 a 90% do parênquima é constituído pelos túbulos seminíferos (*Puma concolor* -

Guião-Leite, 2002; *Chrysocyon brachyurus* - Bittencourt, 2003; *Sus scrofa scrofa* - Almeida et al., 2006; *Hydrochoerus hydrochaeris* - Costa et al., 2006a; *Felis catus*, *Puma concolor* e *Panthera onca* - Costa et al., 2006b; *Tayassu pecari* - Menezes, 2006; *Leopardus pardalis* - Sarti, 2006; *Akodon cursor* - Carvalho, 2007; *Cuniculus paca* - Carreta Junior, 2008; *Molossus molossus* - Morais, 2008). Nesse contexto, observamos que os percentuais obtidos para *T. torquatus* e *T. montanus* estão acima dos valores médios, atingindo níveis tão altos quanto aos observados para duas espécies de roedores silvestres *Proechimys guyannensis* (Lara et al., 2016) e *Trinomys moojeni* (Cordeiro-Jr et al., 2010), colocando assim as duas espécies avaliadas no presente estudo entre aquelas investigadas, com maior potencial de produção de gametas.

As células de Leydig correspondem ao componente intersticial mais frequente (Cordeiro-Jr et al., 2010). Nesse sentido, apesar dos baixos valores do percentual do espaço intersticial obtidos para *T. torquatus* e *T. montanus*, cerca de 25% deste compartimento é constituído pelas células de Leydig. O diâmetro e volume nucleares das células de Leydig observados para *T. torquatus* e *T. montanus*, estão dentro do intervalo observado para outras espécies de vertebrados (*Trinomys moojeni* - Cordeiro-Jr et al., 2010; *Kinosternon scorpioides* - Sousa et al.; 2014; *Proechimys guyannensis* - Lara et al., 2016; *Crotalus durissus* - De Resende e Avelar, 2021).

Nossos resultados sugerem que ambas as espécies de lagartos investigadas apresentam um padrão que prioriza a produção de gametas, mas que *T. torquatus* apresente também mais alta atividade androgênica. Em mamíferos, essa característica é observada nas espécies consideradas promíscuas, sendo o objetivo dos machos acasalar com o maior número de fêmeas (Lara et al., 2016). Para tanto, a atividade testicular desses indivíduos está voltada, sobretudo para a quantidade de gametas produzidos. Em lagartos de gênero *Tropidurus*, o sistema de acasalamento que parece predominar é a poliginia, onde os machos formam haréns e acasalam com mais de uma fêmea (Rodrigues, 1987; Van Sluys, 1997; Van Sluys, 2000; Kohlsdorf et al., 2006; Ribeiro, 2009) e isso é corroborado pela alta produção de espermatozoides verificada nas duas espécies. A alta atividade androgênica em *T. torquatus*, conjugada com alta produção de espermatozoides, poderia estar relacionada a um maior pressão ambiental, em ambientes com maior interferência antrópica. Assim, a alta produção de gametas e maior agressividade, garantiriam o sucesso reprodutivo em territórios com menor disponibilidade de recursos e constantemente ameaçados por outros machos. Dessa forma, surge a necessidade de se investigar o significado sobre a função testicular do maior volume nuclear de células de Leydig em *T. torquatus* frente ao valor obtido para *T. montanus*, pois devemos considerar que elas são responsáveis pela produção de hormônios, como a testosterona. Também deve-se levar em

conta o ambiente onde exemplares das duas espécies foram coletados, haja visto que as condições do local poderiam influenciar no comportamento reprodutivo das espécies. Em relação a *T. torquatus*, qual o grau de antropização das áreas de coleta? Qual o tempo de ocupação? Essa "resposta" é rápida? Áreas antropizadas teriam menor disponibilidade de recursos (alimentares, espaciais) e exigiriam maior agressividade (mais testosterona?) Será que por ser antropizada não existiria menos competição? Por ser antropizada a população seria menor. Por outro lado, por ser menor, teria menos fêmeas disponíveis e a produção de gametas não seria mais baixa do que em *T. montanus*? *T. montanus*, por outro lado, é sintópico com outra espécie de Tropicurídeo. Não seria esperado uma maior agressividade por parte dele, então? A população de *T. montanus* não seria maior, por estar em área natural?

Além dos parâmetros testiculares abordados neste estudo, alcançar a maior eficiência espermatogênica depende também do número e eficiência das células de Sertoli, índices meióticos e apoptóticos, bem como a duração da espermatogênese. Diante disso, o maior número de células de Sertoli associado à maior capacidade desta célula somática de suportar células germinativas, índice mitótico alto e poucas perdas (índice apoptótico baixo), constituem o cenário que determinaria alta produção espermática diária para uma espécie. Contudo, esses parâmetros permanecem ainda para serem investigados e constituem perspectivas deste estudo.

6. Referências bibliográficas

- Almeida FFL, Leal MC, França LR (2006) Testis morphometry, duration of spermatogenesis, and spermatogenic efficiency in the wild boar (*Sus scrofa scrofa*). *Biology of Reproduction* 75: 792-799.
- Baird TA, Hews DK (2007) Hormone levels in territorial and non-territorial male collared lizards. *Physiol Behav* 23: 755-63.
- Bakst MR, Akuffo V, Trefil P e Brillard JP (2007) Morphological and histochemical characterization of the seminiferous epithelial and Leydig cells of the turkey. *Animal Reproduction Science* 97: 303-313.
- Bath GS, Chaudhari SUR (2002) Sperm reserves and its relationship to parameters of the testis, epididymis and vas deferens of local cocks in the Sahel region of Nigeria. *Intern. J. Agric. Biol* 4: 561-564.
- Bittencourt VL (2003) Avaliação morfofuncional do testículo e do processo espermatogênico do lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger, 1811) adulto. Dissertação de Mestrado.
- Bruinjé AC, Coelho FE, Paiva TM e Costa GC (2019a) Aggression, color signaling, and performance of the male color morphs of a Brazilian lizard (*Tropidurus semitaeniatus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 73: 1-11.
- Bruinjé AC, Moura MO, Maggi BS, São-Pedro VA, Pessoa DM e Costa GC (2019b) Conspecifics of the Striped Lava Lizard are able to distinguish sex and male colour morphs in apparently homogeneous dull dorsal colouration. *Amphibia-Reptilia* 40: 149-162.
- Carreta-Junior M (2008) Avaliação morfofuncional do processo espermatogênico de pacas (*Cuniculus paca*, Linnaeus, 1766) adultas. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa 78.

Carvalho FAR (2007) Morfologia e morfometria testicular do roedor silvestre *Akodon cursor* (Winge, 1587) (Rodentia, Muridae). Monografia de Graduação de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Viçosa 46.

Carvalho ALG de (2013) On the distribution and conservation of the South American lizard genus *Tropidurus* Wied-Neuwied, 1825 (Squamata: Tropiduridae). *Zootaxa* 3640: 42-56.

CONCEA. Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal. Resolução Normativa N° 29, de 13 de novembro de 2015. Dispõe o Capítulo “Anfíbios e serpentes mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica” do Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica. Brasília, 2015. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/33325190/do1-2015-11-17-resolucao-normativa-n-29-de-13-de-novembro-de-2015-33325156> Acesso em: janeiro de 2019.

Conselho Federal de Medicina Veterinária. Resolução nº 1000, de 11 de maio de 2012. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. Manual de legislação do sistema CFMV/CRMVs, Brasília, DF, 11 maio 2012. P. 1-9. Disponível em: <<http://ts.cfmv.gov.br/manual/arquivos/resolucao/1000.pdf>> Acesso em: janeiro de 2019.

Cordeiro-Júnior DA, Costa GMJ, Talamoni AS e França LR (2010). Spermatogenic efficiency in the spiny rat, *Trinomys moojeni* (Rodentia: Echimyidae). *Animal reproduction science* 119: 97-105.

Costa DS, Paula TAR, Matta SLP (2006a) Cat, cougar, and jaguar spermatogenesis: a comparative analysis. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49: 725-731.

Costa DS, Paula TAR, Matta SLP (2006b) The intertubular compartment morphometry in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) testis. *Animal Reproduction Science* 91: 173-179.

Costa HC e Bérnils RS (2018) Brazilian reptiles – List of species. Version 2018-1. Sociedade Brasileira de Herpetologia.

De Almeida, F. G., Guimarães, L. S. F., Fonseca, A. de O., de Oliveira, P. R., & da Silva Mendes, S. (2021). Influence of pesticides in reproductive aspects of *Tropidurus torquatus* in Minas Gerais, Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*. doi:10.1007/s11356-021-12712-4

Ferreira A, Kihara VO e Mehanna M (2011) Reproductive strategies of Brazilian lizards of the genus *Tropidurus* Rodrigues, 1987 (Squamata, Tropiduridae) in the temporal and spatial. *Int. J. Morphol.* 29(4): 1414-1421.

França LR e Russell LD (1998) The testis of domestic mammals. In: Martinez-Garcia F, Regadera J (Eds). *Male reproduction: a multidisciplinary overview*. Churchill Livingstone, Madrid 197-219.

Geffroy B, Wedekind C (2020) Effects of global warming on sex ratios in fishes. *Journal of Fish Biology* 97: 596-606.

Guião-Leite FL (2002) Análise morfológica do testículo e do processo espermatogênico da onça parda (*Puma concolor*, Wozencraft, 1993) adulta. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa 76.

Hess RA, França LR (2008) Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. In: Cheng CY (ed) *Molecular mechanism in spermatogenesis*. Springer, New York 1–15

Kerr JB, Loveland K L, O'bryan MK, Kretser DM (2006) Cytology of the testis and intrinsic control mechanisms. In: Neill JD, editor. *Physiology of Reproduction*, San Diego, CA: Elsevier 827–947.

Kohlsdorf, T., Ribeiro, J. M., & Navas, C. A. (2006). Territory quality and male dominance in *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae). *Phyllomedusa: Journal of Herpetology* 5: 109-118.

Lara NLM et al (2016). Duration of spermatogenesis and daily sperm production in the rodent *Proechimys guyannensis*. *Zygote* 24: 783-793.

Lara NLM, Costa GMJ, Avelar GF, Lacerda SMSN, Hess RA, França LR (2018) Testis Physiology – Overview and Histology. In: Skinner, MK editor. Encyclopedia of Reproduction, Pullman, WA: Academic Press 1:12.

Martelotte S, Rocha C, Kiefer MC e Van Sluys M (2010) Reproduction in neotropical *Tropidurus* lizards (Tropiduridae): evaluating the effect of environmental factors on *T. torquatus*. *Amphibia-Reptilia* 31: 117-126.

Martínez-Juárez A, Moreno-Mendoza N (2019) Mechanisms related to sexual determination by temperature in reptiles. *Journal of Thermal Biology* 85: 102400.

Menezes CMC (2006) Análise morfofuncional da espermatogênese de queixadas (*Tayassu pecari* Link, 1795). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Norte Fluminense 65.

Moore MC, Marler CA (1987). Effects of testosterone manipulations on nonbreeding season territorial aggression in free-living male lizards, *Sceloporus jarrovi*. *Gen Comp Endocrinol* 65: 225-32.

Morais DB (2008) Morfologia e morfometria testicular em morcego insetívoro (*Molossus molossus* Pallas, 1776) (Chiroptera, Molossidae).

Morais DO (2015) Histologia testicular do lagarto *Ameivula ocellifera* (SPIX, 1825) (SAURIA: TEIIDAE). Monografia.

Pereira BL, Cintra B, Fonseca VE, Luna HS e Simpan HS (2004) Índice gonadossomático como indicador do período reprodutivo de *Prochilodus lineatus* (Pisces, Characidae) nos rios Aquidauana e Miranda. Simpósio sobre Recursos Naturais e Sócio-Econômicos do Pantanal.

Pinto ACS, Wiederhecker HC, Colli GR (2005) Sexual dimorphism in the Neotropical lizard, *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae). *Amphibia-Reptilia* 26: 127-137.

Pough FH, Janis CM, Heiser JB (2013) A vida dos vertebrados 9:729.

De Resende FC, Avelar GF (2021) The sexual segment of the kidney of a tropical rattlesnake, *Crotalus durissus* (Reptilia, Squamata, Viperidae), and its relationship to seasonal testicular and androgen cycles. *Journal of Morphology* 282: 1402-1414.

Ribeiro LB, Sousa BM, Gomides SC (2009) Range structure, microhabitat use, and activity patterns of the saxicolous lizard *Tropidurus torquatus* (Tropiduridae) on a rock outcrop in Minas Gerais, Brazil. *Revista Chilena de História Natural* 82: 577-588.

Rodrigues MT (1987) Sistemática, ecologia e zoogeografia dos *Tropidurus* do Grupo *torquatus* ao sul do Rio Amazonas (Sauria, Iguanidae). *Arquivos de Zoologia* 31:105-230.

Rodrigues MT (1988) Distribution of lizards of the genus *Tropidurus* in Brazil (Sauria: Iguanidae). Heyer WR & Vanzolini PE. (Eds.) Rio de Janeiro, Acad. Bras. Ciências. In *Proceedings of a Workshop on Neotropical Distributional Patterns* 305-315.

Russell LD, Ettlín RA, Sinha-Hikim AP, Clegg ED (1990) Histological and histopathological evaluation of the testis. Clearwater, Florida. Cache River Press 16:286.

Salvador RMV, Pim F, Júnior HAN et al (2018) *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae) as a bioindicator of heavy metal (aluminum and zinc) pollution in Vila Velha, Brazil. *Environ Sci Pollut Res* 25: 1210–1219.

Sarti P (2006) Avaliação morfométrica do testículo e da espermatogênese de jaguatiricas (*Leopardus pardalis*, Linnaeus, 1758) adultas. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa 56.

Setchell BP, Breed WG (2006) Anatomy, vasculature and innervation of the male reproductive tract. In: Neill JD, editor. *Physiology of Reproduction*, San Diego, CA: Elsevier 771–825.

Silva D, Rodrigues M, Mehanna M, Ferreira A e Dolder H (2016) Germinative cells and spermatogenesis of the lizard *Tropidurus torquatus* (Tropiduridae) from a urban area in the Cerrado biome of the brazilian midwest. *Bioscience Journal*.

Sousa AL, Campos-Junior PHA, Costa GMJ e de França LR (2014). Spermatogenic cycle length and sperm production in the freshwater turtle *Kinosternon scorpioides*. *Biology of Reproduction* 90: 1-10.

Stuart-Fox D, Moussalli MA, Justin Marshall N, and Owens IPF (2003) Conspicuous males suffer higher predation risk: visual modeling and experimental evidence from lizards. *Animal Behaviour* 66: 541-550.

Uetz P, Freed P, Aguilar R e Hošek J (2021) The Reptile Database, disponível em: <<http://www.reptile-database.org>> Acesso em março de 2021.

Van Dyke, JU (2015) Cues for reproduction in Squamate Reptiles. *Reproductive biology of lizards and tuatara* 10: 109-143.

Van Sluys M (1997) Home range of the saxicolous lizard *Tropidurus itambere* (Tropiduridae) in southeastern Brazil. *Copeia* 1997: 623-628.

Van Sluys M (2000) Population dynamics of the saxicolous lizard *Tropidurus itambere* (Tropiduridae) in a seasonal habitat of Southeastern Brazil. *Herpetologica* 55-62.

Van Sluys M, Mendes HMA, Assis VB, Kiefer MC (2002) Reproduction of *Tropidurus montanus* Rodrigues, 1987 (Tropiduridae), a lizard from a seasonal habitat of southeastern Brazil, and a comparison with other *Tropidurus* species. *Herpetological Journal* 12: 89-98.

Vitt LJ (1993) Ecology of isolated open formation *Tropidurus* (Reptilia: Tropiduridae) in Amazonian lowland rainforest. *Canadian Journal of Zoology* 71: 2370-2390.

Vitt LJ, Colli GR (1994) Geographical ecology of a neotropical lizard: *Ameiva ameiva* (Teiidae) in Brazil. *Canadian Journal of Zoology* 72:1986-2008.

Wiederhecker HC, Pinto ACS, Colli GR (2002) Reproductive ecology of *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae) in the highly seasonal Cerrado biome of central Brazil. *Journal of Herpetology* 36: 82-91.